

補助事業番号 2021M-184

補助事業名 2021年度 PCR増幅を必要としない超高感度遺伝子判定のためのPNAセンサーチップの実用化技術開発 補助事業

補助事業者名 東京家政大学 教授・池田壽文

1 研究の概要

検出感度を向上させることにより、従来技術では不可能とされたPCR増幅法による前処理が不要な、即ち、生体試料由来の標的遺伝子を直接検出可能な超高感度なPNAセンサーチップの実用化技術基盤の開発を実施した。

2 研究の目的と背景

我々は、MEMS(微小電気機械システム)技術に着目し、PNAセンサーチップをマイクロTUS(トータル化学分析システム)化して、PCR増幅法を必要としない超高感度な診断システムの開発を目的として、本事業を開始した。

センサーチップの超高感度化を図る最大の原因はPCR増幅法にある。生体試料を基にした各種遺伝子分析・診断には必ずPCR増幅法を利用してきた。これは、判定装置側の検出限界と比較して生体試料の存在量が著しく少ないために開発された方法である。ところが、PCR増幅には技術者が必要になり、また、偽陰性や偽陽性などの誤判定を引き起こすといった課題があった。

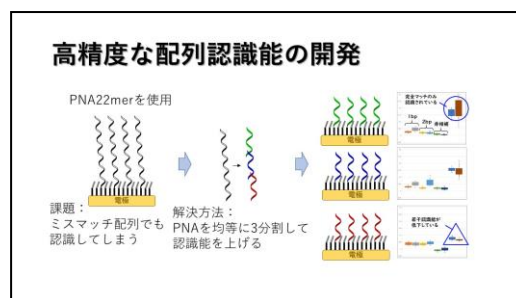
我々は、極微量試料でも検出可能な超高感度センサーの開発が必須であるという考えのもとで、2015年から着手した「人工核酸PNA(ペプチド核酸)を利用した遺伝子解析システムの開発」を実施している。その過程で、生体内分解酵素に耐性を持つ人工核酸PNAをプローブとしたPNAセンサーチップを開発している。最近、このPNAセンサーチップを用いて、170 zeptoモル程度の極微量の標的miRNAを高感度に検出することに成功した。この手法は、微小電極に対して15 picoリットル程度の極小容量のラベルフリーな状態のサンプルを、電気化学的検出方法で作用させることにより、高感度検出が可能となったのであるが、サンプル容量が小さいためにハイブリ反応中に蒸発してしまう可能性があった。

3 研究内容

https://www.tokyo-kasei.ac.jp/society/ikeda_h_10.pdf

(1)「高精度に判定可能」なPNAセンサーチップ作製技術の確立

プローブとして使用するPNAの特性を生かしつつ、高精度なセンサーを設計することを目的として、センサーチップ上に張り付けるPNAプローブの作り込みを実施した。PNAの課題は22merの長さになった時の一塩基ミスマッチをどのように抑えるかがポ

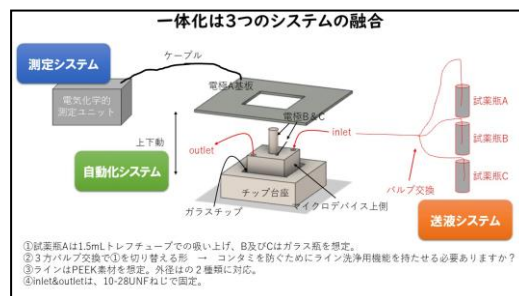


イントとなったが、それを克服する仕組みとしてPNA22merを3分割した短鎖PNAを用いて、高精度に判定可能な仕組みを開発した。これに対応した治具開発も終わり、新規特許出願することができた。

(2)「超高感度に極微量試料を検出可能」なPNAセンサーチップ作製技術の確立

超高感度化するためのポイントは、試料量を少なくすることと試料の乾燥を防ぐことであり、そのためにPNAセンサーチップをマイクロデバイス化することにした。まず、3D CADソフトと3Dプリンターを用いて試作品の作製を自ら行い、出来上がった設計

図面をもとに治具を外部発注した。その結果、試薬量を30～300 μL に調整し、乾燥を防ぎつつ、PNAセンサーチップでの診断を繰り返してできるユニットを作製することができた。このユニットを組み込んだ次項(3)に関連した遺伝子診断装置の試作を並行して実施した。



(3)POCTを目標とした遺伝子診断装置の試作

既に開発済みの遺伝子診断装置は5つのユニットが独立して存在していたので、これを一体化することが本プロジェクトの大きな目標であった。前項(2)で開発したマイクロデバイス化したユニットを含んだ一体化に関して設計を行い、遺伝子診断装置の第1号試作機を作製することに成功した。



4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

今回採用している電気化学的検出方法は振動に強いことが知られていて、先行他社の蛍光検出法とは異なり、診断装置の小型軽量化が可能である。同様に、医療現場で使用されるPOCT (簡易迅速検査)に対応した診断装置は専門知識を有する技術者に使用が限定されるため、専門知識を持たない一般人が使用して正確な診断ができるまでにはまだ時間を要する状況である。本申請事業を通して実用化される診断装置はベッドサイド診療を目指しているので、真の意味でのPOCTが可能になるという点でも意義深い事業内容である。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

研究責任者の池田は生物有機化学を主分野として研究している。具体的には、人工核酸であるペプチド核酸(PNA)を用いたバイオテクノロジーの各方面への応用展開を図っていて、2000年には即効型NEDO産業技術研究助成事業、2002年からNEDO産業技術研究助成事業に採用され、PNA周辺技術基盤を開発した。このプロジェクトでは数多くの応用展開に成功し、その実績が認め

られて2008年にNEDO若手研究グラント成功事例30選 2008に選出されている。

その後、2013年から自動車部品メーカー(株)ヨコオと共同研究を開始し、電気化学的手法による遺伝子検出方法の開発に着手した。ヨコオはハード面での技術開発に長けていて、120電極同時測定可能なポテンショスタットをはじめ、共同研究を通していくつかの特許出願に至っている(内、池田は4件に参与)。このうち、池田はPNAを使用したチップ作製技術の開発を行い、140 zeptoモルの検出感度にまで向上させることに成功した(Takase, et al. Sensors 2020, 20, 836)。

本事業は、これまでに培ってきた人工核酸PNAのノウハウと電気化学的な診断装置を融合させて、更なる認識精度向上と認識感度向上を図るものであった。その結果、そのPNAプローブのターゲット認識精度を向上させて、擬陽性を解消することに成功した(池田、特願2022-094145)。さらに、診断各ユニットを一体化した試作機を作製できた。バイオサイエンスの中で、1990年代からPNAは天然核酸に代わる新たな素材と言われつつ、未だ各方面で実用化に至っていなかった。今回初めてPNAを実用化可能な開発ができたことは、これまで天然核酸のみで議論されてきたバイオサイエンスが新たな扉を開けることができる契機となった。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

特許出願：特願2022-094145「ペプチド核酸(PNA)センサーチップ及びその製造方法」、【発明者】及び【特許出願人】池田壽文

【特許出願】	特願2022-094145	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094146	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094147	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094148	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094149	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094150	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094151	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094152	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094153	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094154	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094155	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094156	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094157	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094158	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094159	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094160	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094161	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094162	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094163	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094164	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094165	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094166	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094167	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094168	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094169	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094170	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094171	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094172	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094173	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094174	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094175	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094176	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094177	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094178	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094179	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094180	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094181	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094182	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094183	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094184	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094185	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094186	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094187	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094188	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094189	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094190	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094191	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094192	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094193	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094194	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094195	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094196	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094197	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094198	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094199	提出日:令和4年6月10日
【特許出願】	特願2022-094200	提出日:令和4年6月10日

7 補助事業に係る成果物

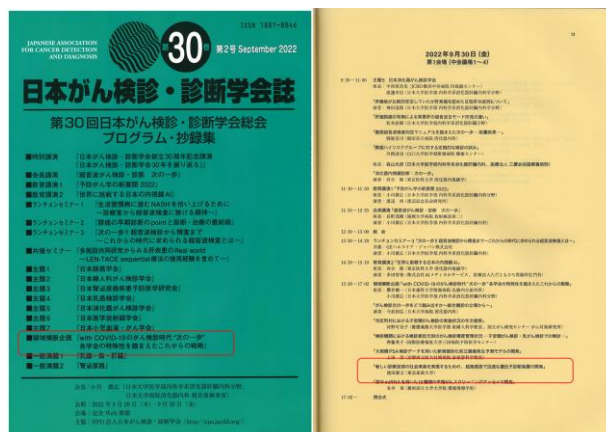
(1)補助事業により作成したもの

大学HPからのJKAシンポジウムの案内

https://www.tokyo-kasei.ac.jp/academics/environmental_science_and_education/topics/2022/20220602082927.html

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

第30回日本がん検診・診断学会総会(2022年9月29-30日)の講演要旨



8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 東京家政大学家政学部(トウキョウカセイダイガクカセイガクブ)

住 所： 〒173-8602

東京都板橋区加賀1-18-1

担 当 者： 教授 池田壽文(イケダヒサフミ)

担 当 部 署： 環境教育学科(カンキョウキョウイクガッカ)

E-mail : ikedah@tokyo-kasei.ac.jp

U R L : <https://www.tokyo-kasei.ac.jp/>